

# Delovanje metribuzina na aktivnost nekih enzima u zemljištu

Ljiljana Šantrić, Ljiljana Radivojević, Slavica Gašić, Radmila Stanković-Kalezić  
i Jelena Gajić-Umiljendić

*Institut za pesticide i zaštitu životne sredine, 11080 Beograd, Banatska 31b, Srbija  
(ljiljasa@beotel.net.yu)*

## REZIME

U radu je ispitivano delovanje metribuzina na aktivnost nekih enzima u zemljištu. Ogled je postavljen u laboratorijskim uslovima na zemljištu tipa černoze. Metribuzin je primenjen u količinama 12,0, 24,0 i 60,0 mg/kg zemljišta, a uzorci za analizu uzimani su 3, 7, 15, 30 i 45 dana posle primene metribuzina. Praćena je aktivnost enzima alkalna i kisela fosfataza, dehidrogenaza, ureaza i  $\beta$ -glukozidaza.

Dobijeni rezultati su pokazali da delovanje metribuzina na aktivnost enzima zavisi od primenjene količine, dužine delovanja i vrste enzima. Metribuzin je delovao inhibitorno na kiselu fosfatazu i dehidrogenazu, na alkalnu fosfatazu prvo je delovao inhibitorno, a kasnije stimulatивно, na ureazu je delovao stimulatивно, dok na  $\beta$ -glukozidazu nije delovao.

**Ključne reči:** Metribuzin; zemljište; alkalna fosfataza; kisela fosfataza; dehidrogenaza; ureaza;  $\beta$ -glukozidaza

## UVOD

Zemljište predstavlja polidisperzni sistem čija se dinamičnost ogleda u neprekidnom kruženju materije i energije. U procesima stvaranja i održavanja zemljišta, kao složenog ekosistema, mikroorganizmima pripada veoma značajna uloga. Mikroorganizmi izdvajaju u okolnu sredinu enzime koji predstavljaju katalizatore biohemijskih procesa; učestvuju u svim procesima kruženja materije i energije, stvaranja i održavanja plodnosti. U zemljištu je prisutno oko pedeset vrsta enzima (Tabatabai, 1982). Najveći izvori enzima su mikroorganizmi i u zemljištu se nalaze kao ekstracelularni (slobodni ili vezani za minerale gline i humusne koloide) i intracelularni (u živim i izumrlim ćelijama mikroor-

ganizama), a mogu biti i udruženi sa različitim biotičkim i abiotičkim komponentama (ćelijama mikroorganizama, korenom biljaka, izumrlim ćelijama i ostacima izumrlih ćelija). Aktivnost slobodnih enzima u zemljišnom rastvoru je neznatna s obzirom da se veoma brzo inaktiviraju usled denaturacije, hidrolize ili vezivanja za zemljišne konstituentne ili koloide (Rojo i sar., 1990). Imobilizacijom u zemljištu enzimi stvaraju stabilne komplekse sa ili na mineralima gline, polisaharidima i humusnim materijama pa tako zadržavaju svoju aktivnost i stiču otpornost prema proteolizi i drugim nepovoljnim faktorima (Tabatabai, 1982; Acosta-Martinez i Tabatabai, 2000; Marx i sar., 2001).

Sadržaj enzima zavisi od biomase i metaboličke aktivnosti organizama, a stepen njihove aktivnosti

oslikava intenzitet procesa koji se odvijaju u zemljištu (Nannipieri i sar., 1983; Haziev i Gulko, 1991). Zbog toga se u istraživanjima upravo enzimi koriste kao pokazatelji opšte biogenosti i plodnosti zemljišta (Burns, 1982; Carbonelli i sar., 2000; Benitez i sar., 2004). Po mišljenju većeg broja istraživača (Powlson i sar., 1987; Allievi i Gigliotti, 2001; Monkiedje i sar., 2002; Ahtiainen i sar., 2003) promene u aktivnosti enzima mogu da ukažu na štetan efekat pesticida na populaciju mikroorganizama.

Tako su u radu sa DDT-ijem, Singh i saradnici (2001) pokazali da ovaj insekticid značajno smanjuje aktivnost dehidrogenaze i ukupne fosfataze. Fungicidi metalaksil i mefeksol smanjuju aktivnost dehidrogenaze, alkalne fosfateze i  $\beta$ -glukozidaze (Jones i Ananyeva, 2001; Monkiedje i sar., 2002; Klose i Ajwa, 2004), dok karbendazim i tiabendazol potpuno inhibiraju celulazu i smanjuju aktivnost amilaze i invertaze. U ogledu sa met-sulfuron-metilom Ismail i saradnici (1998) su registrovali smanjenu aktivnost ureaze i amilaze, dok je smanjenje aktivnosti proteaze bilo prolaznog karaktera.

Herbicidi iz grupe triazina (kojima pripada i metribuzin) veoma često inhibiraju aktivnost, rast i razviće zemljišnih mikroorganizama, a stepen inhibitornog delovanja zavisi od prirode aktivne materije, njene koncentracije, dužine izloženosti, edafskih i klimatskih činilaca. Nagaraja i saradnici (1998) su pratili delovanje atrazina na aktivnost ureaze, fosfataze i dehidrogenaze na neutralnom, kiselom i alkalnom zemljištu, i utvrdili su da atrazin deluje inhibitorno na ispitivane enzime, pri čemu je najslabije delovanje na neutralnom, a najjače na alkalnom zemljištu.

U ovom radu praćen je uticaj metribuzina, u zavisnosti od koncentracije i dužine delovanja, na aktivnost nekih enzima u zemljištu.

## MATERIJAL I METODE

Ispitivanja su obavljena u laboratorijskim uslovima, na zemljištu tipa černoze (pH 6,9, organska materija 3,8%, pesak 19%, glina 32%, prah 49%). Zemljište (lokalitet: Putinci) je uzeto sa dubine 0-10 cm sa površina na kojima ranije nisu primenjivani herbicidi, očišćeno je od ostataka nadzemnih i podzemnih delova biljaka, osušeno do vazdušno suvog stanja i prosejano kroz sito prečnika 5 mm.

Metribuzin [4-amino-6-terc-butil-3-metiltio-1,2,4-triazin-5(4H)-on], kao preparat Sencor WG-70, primenjen je u koncentracijama 12,0, 24,0 i 60,0 mg/kg zemlji-

šta. Koncentracije su izabrane tako da najniža odgovara količini koja se preporučuje za primenu u praksi, druga je dva, a treća pet puta veća od te količine. Metribuzin je nanet na površinu jednog kilograma zemljišta pumpicom za tankoslojnu hromatografiju, a zatim je izvršena homogenizacija na rotacionoj mućkalici u trajanju od 30 minuta. Nakon homogenizacije zemljište je preneto u vegetacione sudove koji su za vreme trajanja oglada držani u klima komori na temperaturi  $20 \pm 2^\circ\text{C}$  i vlažnosti vazduha 50%. Vlažnost zemljišta je održavana na 50% poljskog vodnog kapaciteta. Uzorci za analize uzimani su 3, 7, 15, 30 i 45 dana posle primene metribuzina, i praćena je aktivnost enzima alkalna fosfataza, kiselna fosfataza, dehidrogenaza, ureaza i  $\beta$ -glukozidaza.

Alkalna fosfataza je određivana po metodi Tabatabai (1982). Metoda je zasnovana na spektrofotometrijskom određivanju p-nitrofenola (p-NP) koji nastaje iz p-nitrofenilfosfata kao proizvod aktivnosti ovog enzima u modifikovanom univerzalnom puferu (MUB) pH vrednosti 11,0. Merenje je vršeno na talasnoj dužini 410 nm, a aktivnost enzima je izražavana u  $\mu\text{g p-NP}$  po gramu zemljišta, u sekundi.

Kiselna fosfataza je, takođe, određivana po metodi Tabatabai (1982), istim postupkom kao i alkalna fosfataza, ali u modifikovanom univerzalnom puferu (MUB) pH vrednosti 6,5. Aktivnost enzima je izražavana u  $\mu\text{g p-NP}$  po gramu zemljišta, u sekundi.

Dehidrogenaza je određivana po metodi Tabatabai (1982), koja je zasnovana na spektrofotometrijskom određivanju trifenil-formazana (TPF) koji nastaje iz trifeniltetrazolijum-hlorida, kao proizvod aktivnosti ovog enzima. Merenje je vršeno na talasnoj dužini 485 nm, a aktivnost enzima je izražavana u mg TPF po gramu zemljišta.

Ureaza je određivana po metodi Tabatabai i Bremner (1972). Metoda je zasnovana na merenju  $\text{NH}_4^+$ -N jona koji nastaju kao proizvod aktivnosti enzima u zemljištu inkubiranom u tris(hidroksimetil)aminometan puferu (THAM) i 0,2 M rastvoru uree. Aktivnost enzima je izražavana u pmol N-NH<sub>4</sub> po gramu zemljišta.

$\beta$ -glukozidaza je određivana po metodi Tabatabai (1982), koja predstavlja modifikaciju osnovne metode koju su opisali Eivarzi i Tabatai (1977). Metoda je zasnovana na spektrofotometrijskom određivanju p-nitrofenola (p-NP) koji nastaje iz p-nitrofenil- $\beta$ -D-glukozida, kao proizvod aktivnosti enzima. Merenje je vršeno na talasnoj dužini 410 nm, a aktivnost enzima je izražavana u  $\mu\text{g p-NP}$  po gramu zemljišta, u sekundi.

Statistička obrada rezultata obavljena je kompjuterskim programom Anova. Za sve promenljive i njihove

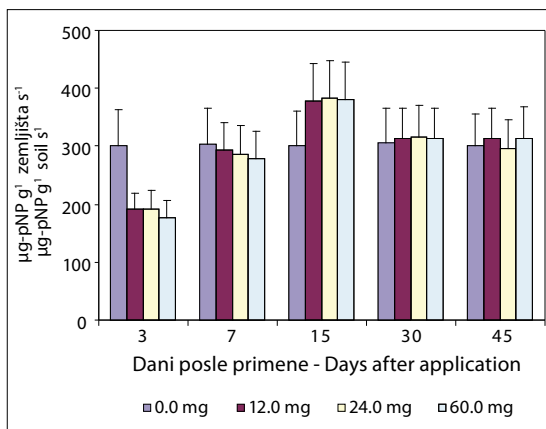
interakcije urađen je F-test, a ukoliko je on bio značajan za pojedinačna poređenja korišćen je LSD test.

## REZULTATI I DISKUSIJA

Fosfataze su ekstracelularni enzimi koji su svojstveni velikom broju mikroorganizama i odgovorni su za hidrolizu organskih i neorganskih jedinjenja fosfora u zemljištu. Podeljene su u pet grupa, a najviše su proučavane fosfomonoesteraze. Fosfomonoesteraze su, na osnovu optimalne aktivnosti u alkalnoj ili kiseljoj sredini, podeljene na alkalne (ortofosforna monoestar fosfohidrolaza, EC 3.1.3.2) i kisele fosfataze (ortofosforna monoestar fosfohidrolaza, EC 3.1.3.1) (Malcolm, 1983; Haziev i Gulko, 1991).

U ogledu sa metribuzinom smanjena aktivnost alkalne fosfataze registrovana je trećeg i sedmog dana. Procenat smanjenja se, u zavisnosti od koncentracije i dužine delovanja, kretao od 5,7% (24,0 mg, sedam dana) do 41,4% (60,0 mg, tri dana). Promene u delovanju registrovane su od petnaestog dana kada je zabeležena povećana aktivnost i to za 1,8% (60,0 mg), odnosno 27,2% (24,0 mg) (Slika 1). Sve razlike su bile statistički značajne u odnosu na kontrolne vrednosti.

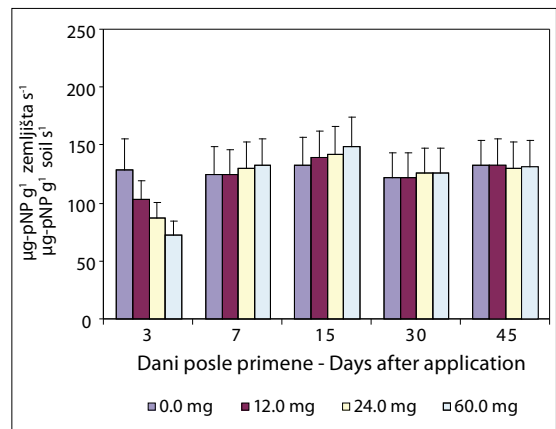
Na slici 2 prikazani su rezultati delovanja metribuzina na aktivnost kisele fosfataze. Promene u aktivnosti kisele fosfataze registrovane su samo trećeg i petnaestog dana. Ove razlike su bile statistički značajne u odnosu na kontrolne vrednosti. Trećeg dana je kod sve tri koncentracije zabeleženo smanjenje aktivnosti od 19,7% (12,0 mg) do 43,6% (60,0 mg), a petnaestog dana povećanje od 5,0% (12,0 mg) do 12,3% (60,0 mg).



**Slika 1.** Delovanje metribuzina na alkalnu fosfatazu  
**Figure 1.** Effect of metribuzin on alkaline phosphatase

Delovanje herbicida na aktivnost fosfataza pratili su i drugi istraživači. Tako su, Nagaraja i saradnici (1998) i Radivojević (2006) ispitivali delovanje atrazina i nikosulfurona na aktivnost alkalne i kisele fosfataze. Prema njihovim rezultatima atrazin i nikosulfuron su inhibitorno delovali na alkalnu, a stimulatивно na kiselu fosfatazu. Perucci i saradnici (1988) su utvrdili da priroda jedinjenja, količina primene i dužina izloženosti imaju značajan uticaj na aktivnost fosfataza. Prateći delovanje atrazina, alahlora i metolahlora, navedeni autori su utvrdili da atrazin deluje inhibitornije u poređenju sa ostala dva herbicida i to tumače kao posledicu direktnog delovanja atrazina na sintezu alkalne i kisele fosfataze. Do sličnih rezultata došli su i Klose i Ajwa (2004) koji su pratili aktivnost kisele fosfataze u zemljištu koje je fumigovano metil-bromidom.

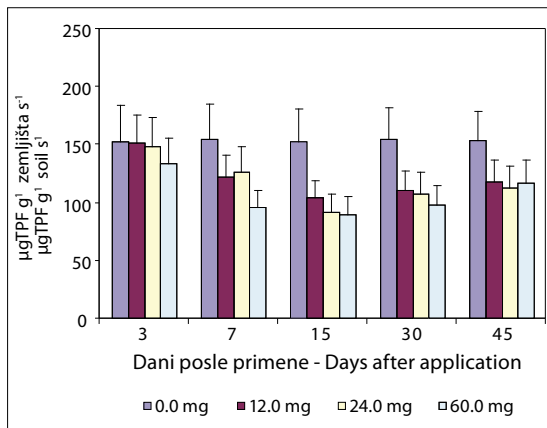
Dehidrogenaze sintetišu žive ćelije mikroorganizama i izlučuju ih u spoljašnju sredinu (Shuster i Schroeder, 1990). One se u zemljištu ne vezuju za pojedine frakci-



**Slika 2.** Delovanje metribuzina na kiselu fosfatazu  
**Figure 2.** Effect of metribuzin on acid phosphatase

je, već postoje kao slobodni enzimi i kao takve su veoma osetljive na delovanje nepovoljnih činilaca iz spoljašnje sredine, a time i pesticida (Tabatabai, 1982; Rossell i sar., 1992; Benitez i sar., 2004). Rezultati naših istraživanja pokazuju da metribuzin izaziva smanjenje aktivnosti ovog enzima u periodu od trećeg do četrdeset petog dana posle primene (Slika 3). Najveći stepen smanjenja (41,0%) utvrđen je petnaestog dana kod koncentracije 60,0 mg, a najmanji (2,9%) trećeg dana kod koncentracije 24,0 mg. U ostalim varijantama ogleda, aktivnost dehidrogenaze je bila smanjena za 12,4-38,4% u zavisnosti od primenjene koncentracije i dužine delovanja. Sve razlike su bile statistički značajne u odno-

su na kontrolne vrednosti. Po našem mišljenju, do smanjenja aktivnosti došlo je zbog toksičnog delovanja metribuzina na populaciju mikroorganizama, čije su žive ćelije osnovni izvori ovog enzima u zemljištu. Naši rezultati su u saglasnosti sa rezultatima drugih autora koji su pratili delovanje pesticida na aktivnost dehidrogenaze (Davies i Greaves, 1981; Milošević i sar., 1995; Govedarica i sar., 1997; Junnila i sar., 1999; Singh i sar., 2001; Monkiedje i sar., 2002, Radivojević, 2006). Od ovih rezultata razlikovali su se jedino rezultati Mina i saradnika (2001), koji su utvrdili da butahlor povećava aktivnost dehidrogenaza i da se povećanjem koncentracije pojačava stimulatивно delovanje. Međutim, autori ne daju obrazloženje za svoje rezultate.

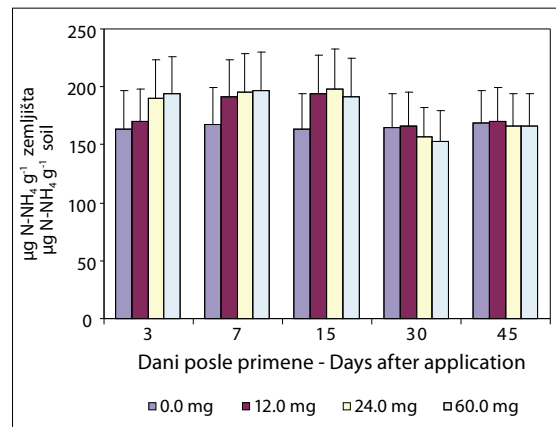


**Slika 3.** Delovanje metribuzina na dehidrogenazu  
**Figure 3.** Effect of metribuzin on dehydrogenase

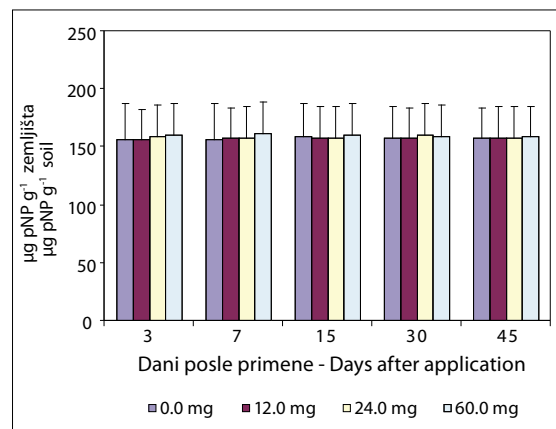
Ureaza (urea amidohidrolaze, EC 3.5.1.5) je enzim koji katališe razgradnju uree do amonijum karbonata. Sam proces razgradnje uree se odvija u dve faze. U prvoj fazi se vrši hidroliza do amonijum karbonata, a u drugoj, amonijum karbonat se razlaže do amonijaka, ugljen-dioksida i vode. Na aktivnost ureaze utiče tip zemljišta, sadržaj organske materije, temperatura, vlaga, pH i dr. (Nor, 1982). Rezultati naših ispitivanja (Slika 4) su pokazali da se aktivnost enzima u kontroli kreće u intervalu 161,8-166,6 pmol N-NH<sub>4</sub> gram<sup>-1</sup> zemljišta. Kada su u pitanju testovi sa metribuzinom, do povećanja aktivnosti dolazi već trećeg dana posle primene, a najveća aktivnost (194,2 pmol N-NH<sub>4</sub> gram<sup>-1</sup> zemljišta) registrovana je sedmog dana (koncentracija od 60,0 mg). U poslednja dva merenja (trideseti i četrdeset peti dan) ni u jednoj varijanti nisu registrovane značajne razlike u poređenju sa kontrolom.

U literaturi postoje protivrečni podaci o delovanju pesticida na aktivnost ureaze. Prema nekim autorima (Antonious, 2003) delovanje piretroida je prolaznog karaktera i ne ugrožava ciklus azota u zemljištu. Ismail i saradnici (1998) navode da mesulfuron-metil smanjuje aktivnost ureaze dvadeset osam dana posle primene. U ovim ogledima nije došlo do obnavljanja aktivnosti ureaza, za razliku od proteaze i amilaze kod kojih se obnovila aktivnost četrnaest dana nakon primene. Smanjenu aktivnost ureaze za 41-56% pod uticajem dalapona i parakvata konstatovali su Namdeo i Dube (1993), a za razliku od njih Milošević i saradnici (1995) su utvrdili, u ogledima sa glifosatom, povećanu aktivnost enzima za 50%.

β-glukozidaza je enzim koji je značajan za kruženje ugljenika u zemljištu. On katališe hidrolizu disaharida iz glukoze pri čemu se oslobađa energije koju mikroorganizmi koriste za svoje fiziološke procese (Knight i Dick, 2004).



**Slika 4.** Delovanje metribuzina na ureazu  
**Figure 4.** Effect of metribuzin on urease



**Slika 5.** Delovanje metribuzina na β-glukozidazu  
**Figure 5.** Effect of metribuzin on β-glucosidase

Prema rezultatima naših istraživanja (Slika 5) metribuzin ne utiče statistički značajno na aktivnost  $\beta$ -glukozidaze. U literaturi nema dovoljno podataka o delovanju herbicida na ovaj enzim, a naši rezultati se razlikuju od rezultata do kojih su došli neki drugi autori. Tako su, Ismail i saradnici (1998), kao i Klose i Ajwa (2004) utvrdili da se aktivnost  $\beta$ -glukozidaze u prisustvu atrazina smanjuje dvadeset jedan dan nakon primene. Do smanjenja aktivnosti enzima, po mišljenju ovih autora (slično kao i kod dehidrogenaze) dolazi zbog izumiranja ćelija mikroorganizama pod uticajem atrazina, čime se smanjuje sinteza i izlučivanje  $\beta$ -glukozidaze u spoljašnju sredinu.

Imajući u vidu dobijene rezultate smatramo da delovanje metribuzina na aktivnost enzima zavisi od primenjene količine, dužine delovanja i vrste enzima, da je efekat prolaznog karaktera, i da ne postoji opasnost da metribuzin naruši biohemijsku aktivnost koja bi mogla da se odrazi na plodnost zemljišta.

## ZAHVALNICA

Rad je rezultat projekta TR20041 – Biološka, hemijska, toksikološka i ekotoksikološka proučavanja herbicida i njihova primena, Ministarstva za nauku i tehnološki razvoj Republike Srbije.

## LITERATURA

- Acosta-Mertinez, V. and Tabatabai M.A.*: Enzyme activities in a limed agricultural soil. *Biol. Fertil. Soils*, 31: 85-91, 2000.
- Abtinaen, H.J., Vanbala, P. and Myllymaki, A.*: Effects of different plant protection programs on soil microbes. *Ecotox. Environ. Saf.*, 54: 56-64, 2003.
- Allievi, L. and Gigliotti, C.*: Response of the bacteria and fungi of two soils to the sulfunylurea herbicide cinosulfuron. *J. Environ. Sci. Haelth*, B36(5): 161-175, 2001.
- Antonious, G.F.*: Impact of soil management and two botanical insecticides on urease and invertase activity. *J. Environ. Sci. Haelth*, B38(4): 479-488, 2003.
- Benitez, E., Melgar, R. and Nogales, R.*: Estimating soil resilience to a toxic organic waste by measuring enzyme activities. *Soil Biol. Biochem.*, 36: 1615-1635, 2004.
- Burns, G.S.*: Enzyme activity in soil: location and a possible role in microbial ecology. *Soil Biol. Biochem.*, 14: 423-427, 1982.
- Carbonelli, G., Pablos, M.V., Garcia, P., Ramos, C., Sanchez, P., Fernandez, C. and Tarazona, J.V.*: Rapid and cost-effective multiparameter toxicity test for soil microorganisms. *Sci. Total Environ.*, 247: 143-150, 2000.
- Davies, H.A. and Greaves, M.P.*: Effects of some pesticides on soil enzymes activities. *Weed Res.*, 21: 205-209, 1981.
- Eivarzi, F. and Tabatabai, M.A.*: Phosphatases in soil. *Soil. Biol. Biochem.*, 9: 167-172, 1977.
- Govedarica, M., Milošević, N., Jarak, M., Konstantinović, B. i Đurić, S.*: Uticaj atrazina i alahlora na mikrobiološku aktivnost pod usevom kukuruza. *Acta herbol.*, 6: 39-45, 1997.
- Haziev, F.H. and Gulko, J.M.*: Fermentativnaja aktivnost počv agrocenozov i perspektivi ee izučenija. *Počvovedenie*, 8: 88-103, 1991.
- Ismail, B.S., Yapp, K.F. and Omar, O.*: Effects of metsulfuron-methyl on amylase, urease and protease activities in two soils. *Aust. J. Soil Res.*, 36: 449-456, 1998.
- Jones, W.J. and Ananyeva, N.D.*: Correlations between pesticides transformation rate and microbial respiration activity in soils of different ecosystems. *Biol. Fertil. Soils*, 33: 477-483, 2001.
- Junnila, S., Heinonen-Tanski, H., Ervio, L.R. and Laitinen, P.*: Phytotoxic persistence and microbiological effects of chlorsulfuron and metsulfuron in Finnish soil. *Weed Res.*, 34: 413-423, 1999.
- Klose, S. and Ajwa, H.*: Enzyme activities in agricultural soils fumigated with methyl bromide alternatives. *Soil Biol. Biochem.*, 36: 1625-1635, 2004.
- Knight, T.R. and Dick, R.*: Differentiating microbial and stabilized  $\beta$ -glucosidase activity relative to soil quality. *Soil Biol. Biochem.*, 36: 2086-2096, 2004.
- Malcolm, R.E.*: Assessment of phosphatase activity in soil. *Soil Biol. Biochem.*, 15: 403-408, 1983.
- Marx, M.C., Wood, M. and Jarvis, S.C.*: A microplate fluorimetric assay for the study of enzyme diversity in soil. *Soil Biol. Biochem.*, 33: 1633-1640, 2001.
- Milošević, N., Govedarica, M., Živanović, M., Jarak, M. and Papić, Đ.*: Uticaj glifosata na brojnost i enzimatsku aktivnost mikroorganizama u zemljištu pod vinovom lozom. *Pesticidi*, 10: 129-133, 1995.
- Min, H., Ye, Y., Chen, Z., Wu, W. and Yufeng, D.*: Effects of butachlor on microbial populations and enzyme activities in paddy soil. *J. Environ. Sci. Hlth*. B36(5): 581-595, 2001.
- Monkiedje, A., Ilbori, M.O. and Spittler, M.*: Soil quality changes resulting from the application of the fungicides mefenoxam and metalaxyl to a sandy loam soil. *Soil Biol. Biochem.*, 34: 1939-1948, 2002.
- Nagaraja, M.S., Ramakrishna-Parama, V.R. and Siddaramappa, R.*: Effects of atrazine on urea-N mineral-

isation and activity of some soil enzymes. *J. Ind. Soc. of Soil Sci.*, 46: 189-192, 1998.

**Namdeo, N.K. and Dube, J.N.:** Residual effect of herbicides on urease activities in grassland soil. *Soil. Biol. Biochem.*, 5: 855-859, 1993.

**Nannipieri, P. Muccini, L. and Ciardi, C.:** Microbial biomass and enzyme activities: production and persistence. *Soil Biol. Biochem.*, 15: 679-685, 1983.

**Nor, Y.M.:** Soil Urease Activity and Kinetics. *Soil Biol. Biochem.*, 14: 63-65, 1982.

**Perucci, P., Scarponi, L. and Monotti, M.:** Interference with soil phosphatase activity by maize herbicidal treatment and incorporation of maize residus. *Biol. Fertil. Soils*, 6: 286-291, 1988.

**Powelson, D.C., Brookes, P.C. and Jenkinson, D.C.:** Measurement of soil microbial biomass provides an early indication of changes in total soil organic matter due to straw incorporation. *Soil Biol. Biochem.*, 19: 159-164, 1987.

**Radivojević, Lj.:** Delovanje atrazina i nikosulfurona na mikroorganizme u zemljištu. Doktorska disertacija. Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet, 2006, 1-107.

**Rojo, M.J., Carcedo, S.G. and Mateos, M.P.:** Distribution and characterisation estimations in soils from tussock grasslands

by three biochemical precedures. *Soil Biol. Biochem.*, 22: 169-174, 1990.

**Rossell, D., Maire, N. and Tarradellas, J.:** Dehydrogenase activity and biomass soil microflora. In: *Procc. of International Symposium on Environmental Aspect of Pesticide Microbiology* (J.P.E. Anderson, D.J. Arnold, F. Lewis and L. Torstensson, eds.). Swedish University of Agricultural Science, Department of Microbiology, Singtuna, Sweden, 1992, pp. 48-52.

**Schuster, E. and Schroeder, D.:** Side-effects of sequentially- and simultaneously-applied pesticides on non-target soil organisms: Laboratory experiments. *Soil. Biol. Biochem.*, 22: 375-384, 1990.

**Singh, B.K., Walker, A. and Wrigh, D.J.:** Degradation of pesticides in combination and their effect on soil microbial activity. *Procc. of Symposium Pesticide Behavior in Soil and Water*, British Crop Protection Council (BCPC), Brighton, UK, 2001, pp. 145-150.

**Tabatabai, M.A.:** Soil enzymes. In: *Method of soil analysis, Part 2: Chemical and microbiological properties* (L.A. Page, ed.), American Society of Agronomy, Soil Science Society of America, Madison, WI, USA, 1982, pp. 903-943.

**Tabatabai, M.A. and Bremner, M.J.:** Assay of urease activity in soil. *Soil. Biol. Biochem.*, 4: 479-487, 1972.

---

## Effects of Metribuzin on the Activity of Some Enzymes in Soil

### SUMMARY

Effects of metribuzin on the activity of some enzymes in soil was investigated. Trials were set up in the laboratory on a clay loam soil. Metribuzin was applied at 12.0, 24.0 and 60.0 mg/kg soil rates and soil samples were collected 3, 7, 15, 30 and 45 days after metribuzin treatment for analyses. Alkaline phosphatase, acid phosphatase, dehydrogenase, urease and  $\beta$ -glucosidase were recorded.

The results showed that the intensity of metribuzin effects on the activity of enzymes depended on treatment rate, exposure time and enzyme group. Metribuzin had an inhibiting effect on acid phosphatase and dehydrogenase, as well as on alkaline phosphatase in the initial stage before it turned into a stimulating one, while metribuzin stimulated urease and had no effect on  $\beta$ -glucosidase.

**Keywords:** Metribuzin; Alkaline phosphatase; Acid phosphatase; Dehydrogenase; Urease;  $\beta$ -glucosidase